

PENGARUH PEMBERIAN TERAPI EKSTRAK SERAI (*Cymbopogon citratus*) TERHADAP KADAR MDA (*Malondialdehid*) DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI TUBULUS SEMINIFERUS TIKUS (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI BORAKS

SKRIPSI

Oleh:

**MIRANTI RACHMA PRATITA SARI
135130107111042**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

PENGARUH PEMBERIAN TERAPI EKSTRAK SERAI (*Cymbopogon citratus*) TERHADAP KADAR MDA (*Malondialdehid*) DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI TUBULUS SEMINIFERUS TIKUS (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI BORAKS

SKRIPSI

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan**

Oleh:

**MIRANTI RACHMA PRATITA SARI
135130107111042**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN TERAPI EKSTRAK SERAI (*Cymbopogon citratus*) TERHADAP KADAR MDA (*Malondialdehid*) DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI TUBULUS SEMINIFERUS TIKUS (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI BORAKS

Oleh:
MIRANTI RACHMA PRATITA SARI
135130107111042

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
Pada tanggal 3 Juli 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof.Dr.Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

Wibi Riawan, S.Si., M.Biomed
NIP. 197701312005011001

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Miranti Rachma Pratita Sari
NIM : 135130107111042
Program Studi : Kedokteran Hewan
Penulis Skripsi berjudul : Pengaruh Pemberian Terapi Ekstrak Serai (*Cymbopogon citratus*) Terhadap Kadar MDA (Malondialdehid) dan Gambaran Histopatologi Tubulus Seminiferus Tikus (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Boraks

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaksud di isi dan tertulis dalam daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala risiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 3 Juli 2018
Yang menyatakan,

Miranti Rachma Pratita Sari
135130107111042

repository.ub.ac.id

PENGARUH PEMBERIAN TERAPI EKSTRAK SERAI (*Cymbopogon citratus*) TERHADAP KADAR MDA (*Malondialdehid*) DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI TUBULUS SEMINIFERUS TIKUS (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI BORAKS

ABSTRAK

Boraks merupakan zat xenobiotik yang berbahaya bagi tubuh. Konsumsi boraks secara terus menerus dapat menyebabkan terakumulasinya boraks di beberapa jaringan tubuh seperti otak, hati, lambung, serta organ reproduksi yaitu testis. Sehingga efek pemberian boraks pada testis dapat menyebabkan atrofi testis. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak serai (*Cymbopogon citratus*) yang mengandung antioksidan terhadap kadar malondialdehyde (MDA) dan diameter tubulus seminiferus pada tikus (*Rattus norvegicus*). Tikus putih (*Rattus norvegicus*) dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol negatif, kontrol positif yang dipapar boraks dengan dosis 260 mg/kg BB dan kelompok P1, P2, P3 yang mendapat terapi ekstrak serai dengan dosis berurutan 15 mg/kg BB, 30 mg/kg BB, 60 mg/kg BB. Pemberian boraks dilakukan selama 14 hari *per-oral* menggunakan sonde. Terapi ekstrak serai dilakukan dengan cara *per oral* menggunakan sonde selama 14 hari. Pengukuran kadar MDA menggunakan metode TBA test dan diameter tubulus seminiferus menggunakan pewarnaan HE dan mikroskop mikrometer. Data kadar MDA dan diameter tubulus seminiferus dianalisis menggunakan analisis ragam one way ANOVA dengan taraf kepercayaan $\alpha=5\%$. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terapi ekstrak serai pada tikus yang terpapar boraks secara signifikan ($p<0,05$) menurunkan kadar MDA sampai 27% dan meningkatkan diameter tubulus seminiferus sampai 57%. Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa ekstrak serai mengandung antioksidan yang mampu menurunkan kadar MDA dan meningkatkan diameter tubulus seminiferus.

Kata kunci: Boraks, Ekstrak Serai, MDA, Antioksidan dan Diameter Tubulus Seminiferus

THE POTENCY OF EXTRACT LEMONGRASS (*Cymbopogon citratus*) TOWARD MDA LEVEL (*Malondialdehyde*) AND SEMINIFEROUS TUBULES HISTOPATHOLOGY ON RATS (*Rattus norvegicus*) INDUCED BY BORAX

ABSTRACT

Borax is a xenobiotic compound that dangerous for body. Borax consumption contonously can caused borax accumulation in some bodies tissue, such as: brain, liver, stomach and testes that become atrophy. This research was aimed to know effect of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) extract that contain antioxidant towards MDA level and diameter of seminiferous tubules in rats (*Rattus norvegicus*). The rats (*Rattus norvegicus*) were divide into 5 groups: negatif control group (healthy rats), positive control group that induced by borax with dose of 260 mg/kg BW, and therapy group of extract lemongrass P1, P2, P3 with dose of 15 mg/kg BW, 30 mg/kg BW, and 60 mg/kg BW respectively. The administration of borax was performed for 14 days per-orally. Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) extract administrator was given for 14 days per orally. The level of MDA measured by TBA test and diameter of seminiferous tubules using HE staining measured microscopically. MDA level and diameter of seminiferous tubules analyzed using one way ANOVA with $\alpha=5\%$. The result showed that the effect of lemongrass extract therapy on rats induced by borax significantly ($p<0,05$) decreased the MDA levels up to 27% and increased the diameter of seminiferous tubules up to 57%. It can be concluded that lemongrass extract contains antioxidant which is able to decrease MDA levels and increase the diameter of seminiferous tubules.

Keywords: Borax, Lemongrass Extract, MDA Level, Antioxidant and Diameter Of Seminiferous Tubules

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan nikmat, limpahan rahmat, serta hidayah-Nya, sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul "Pengaruh Pemberian Terapi Ekstrak Serai (*Cymbopogon citratus*) Terhadap Kadar MDA (*Malondialdehid*) Dan Gambaran Histopatologi Tubulus Seminiferus Tikus (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Boraks" sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya (FKH UB).

Dengan terselesaikan skripsi ini, penulis mengucapkan terimakasih banyak kepada:

1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES., selaku dosen pembimbing I dan Dekan FKH UB atas segala bantuan, kesempatan, bimbingan, arahan serta dukungan yang diberikan kepada penulis.
2. Wibi Riawan, S.Si., M.Biomed., selaku dosen pembimbing II atas segala bantuan, kesempatan, bimbingan, arahan serta dukungan yang diberikan kepada penulis.
3. drh. M. Arfan Lesmana, M.Sc., selaku dosen penguji I yang telah meluangkan waktu serta memberikan masukan dan saran demi penyempurnaan skripsi ini.
4. Dhita Evi Aryani, S.Farm., Apt., M. Farm.Klin., selaku dosen penguji II yang telah meluangkan waktu serta memberikan masukan dan saran demi penyempurnaan skripsi ini.

5. Secara khusus penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada seluruh keluarga besar, khususnya kedua Orangtua Ayahanda Sugeng Prayitno dan Ibunda Sutarti yang telah memberikan dukungan moral maupun materi, serta doa dan kasih sayang, serta terimakasih kepada saudara tercinta Karina Rakhma Pratitra Sari, Yanuar Fakhrizalni, dan Kinara Ataya Fakhrizalni yang selalu memberikan motivasi, semangat, serta doa dan inspirasi kepada penulis selama belajar di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang.
6. Kepada teman dan sahabat saya Zulfa, Dewi, Efi, Yuni, Hana dan teman-teman saya yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu penelitian, serta memberikan dukungan dan semangat kepada penulis.
7. Sahabat-sahabat penulis atas kebersamaan, motivasi, kesabaran dalam menghadapi penulis, dan dukungan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
8. Teman – teman DEXA 2013-D dan SIX SENSE yang telah memberikan dukungan kepada penulis.
9. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per-satu.

Penulis menyadari bahwa banyak kekurangan dalam skripsi ini. Makadari itu, penulis menerima kritik dan saran yang membangun untuk perbaikan.

Malang, 3 Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Batasan Masalah	5
1.4. Tujuan	6
1.5. Manfaat	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1. Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	7
2.2. Testis	8
2.3. Boraks	11
2.4. Radikal Bebas	13
2.5. Antioksidan	14
2.6. Serai	15
2.7. Malondialdehid (MDA)	17
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN	19
3.1. Kerangka Konsep.....	19
3.2. Hipotesa Penelitian	22
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	23
4.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	23
4.2. Alat dan Bahan Penelitian	23
4.2.1. Alat.....	23
4.2.2. Bahan	24
4.3. Tahapan Penelitian.....	24
4.3.1. Rancangan Penelitian.....	24
4.3.2. Sampel Penelitian	26
4.3.3. Variabel Penelitian.....	26
4.4. Prosedur Kerja Penelitian	27
4.4.1. Persiapan Hewan Coba	27
4.4.2. Pembuatan Ekstrak serai (<i>Cymbopogon citrates</i>).....	28
4.4.3. Persiapan Tikus dengan Induksi Boraks	28

4.4.4. Pemberian Terapi Ekstrak Serai(<i>Cymbopogon citrates</i>)	28
4.4.5. Preparasi Organ Testis	29
4.4.6. Pembuatan preparat histologi.....	29
4.4.7. Pewarnaan hematoxylin eosin	29
4.4.8. Pengamatan dan pengukuran tubulus seminiferus.....	32
4.4.9. Pengukuran Kadar Malondialdehid (MDA)	33
4.4.9.1. Pembuatan Kurva Malondialdehid (MDA).....	33
4.4.9.2. Pengukuran Kadar Malondialdehid (MDA) Menggunakan Uji Thiobarbituric Acid (TBA)	33
4.4.10. Analisa Data	34
BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN	35
5.1. Pengaruh Toksisitas Boraks terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Testis Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	35
5.2. Pengaruh Ekstrak Serai (<i>Cymbopogon Citratus</i>) Terhadap Diameter Tubulus seminiferus Testis Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Dengan Pewarnaan Hematoksilin Eosin	39
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	45
6.1. Kesimpulan	45
6.2. Saran	45
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN	50

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1. Rancangan Penelitian	25
5.1. Rata-Rata Kadar Malondialdehid (MDA) Testis Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	35
5.2. Rata-Rata Diameter Tubulus Seminiferus Testis Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	41
L. 11.1. Data pengukuran Larutan Standar MDA $\lambda=532$ nm.....	64
L. 11.2. Data Absorbansi Malondialdehid (MDA) Malondialdehid (MDA) Testis Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>).....	65
L. 11.3. Data Perhitungan Kadar Malondialdehid (MDA) Testis Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	65
L. 12.1. Uji Normalitas Data dari Kadar Malondialdehid (MDA) Testis Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	68
L. 12.2. Tabel Deskriptif dari Kadar Malondialdehid (MDA) Testis Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	89
L. 12.3. Uji Homogenitas Varian dari Kadar Malondialdehid (MDA) Testis Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	70
L. 12.4. Uji ANOVA dari Kadar Malondialdehid (MDA) Testis Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	71
L. 12.5. Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dari Kadar Malondialdehid (MDA) Testis Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	72
L. 12.6. Notasi pada Beda Nyata Jujur (BNJ) dari Kadar Malondialdehid (MDA) Testis Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>).....	74
L. 12.7. Notasi Huruf pada Beda Nyata Jujur (BNJ) dari Kadar Malondialdehid (MDA) Testis Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>).....	75
L. 13.1. Uji Normalitas Data dari Diameter Tubulus Seminiferus Testis Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	76
L. 13.2. Tabel Deskriptif dari Diameter Tubulus Seminiferus Testis Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	77
L. 13.3. Uji Homogenitas Varian dari Diameter Tubulus Seminiferus Testis Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	78
L. 13.4. Uji ANOVA dari Diameter Tubulus Seminiferus Testis Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	79
L. 13.5. Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dari Diameter Tubulus Seminiferus Testis Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	79
L. 13.6. Notasi pada Beda Nyata Jujur (BNJ) dari Diameter Tubulus Seminiferus Testis Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>).....	80

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	7
2.2. Anatomi Testis	9
2.3. Serai (<i>Cymbopogon citratus</i>)	15
2.4. Mekanisme Pembentukan Malondialdehid (MDA)	18
3.1. Kerangka Konsep Penelitian	19
5.1. Grafik Rata-rata Kadar Malondialdehid (MDA) Testis Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	35
5.2.A. Histopatologi Testis Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Kelompok K(-) dengan Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) perbesaran 100x	41
5.2.B. Histopatologi Testis Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Kelompok K(+) dengan Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) perbesaran 100x	41
5.2.C. Histopatologi Testis Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Kelompok P1 dengan Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) perbesaran 100x	41
5.2.D. Histopatologi Testis Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Kelompok P2 dengan Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) perbesaran 100x	41
5.2.D. Histopatologi Testis Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Kelompok P3 dengan Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) perbesaran 100x	41
L. 11.1. Kurva Standar Malondialdehid (MDA)	64

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Kerangka Oprasional	51
2. Perhitungan Dosis Boraks	51
3. Perhitungan Pembuatan Sediaan Terapi	51
4. Pembuatan Ekstrak Serai (<i>Cymbopogon Citratus</i>)	55
5. Prosedur Pengukuran Kadar Malondialdehida (MDA) Testis	56
6. Pembuatan Preparat Histopatologi Testis	58
7. Pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE)	59
8. Pengamatan Diameter Tubulus Seminiferus	60
9. Sertifikat Laik Etik	62
10. Determinasi Tanaman Serai	63
11. Perhitungan Kadar Malondialdehid (MDA) Testis Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	64
12. Hasil Uji Statistika Kadar Malondialdehid (MDA) Testis Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	68
13. Uji Statistika Diameter Tubulus Seminiferus Testis Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	76
14. Dokumentasi Kegiatan	81

DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

Simbol/singkatan	Keterangan
%	Persen
°C	Derajat celcius
μL	mikroliter
ANOVA	<i>Analysis Of Variance</i>
BB	Berat Badan
BNJ	Beda Nyata Jujur
BTM	Bahan Tambahan Makanan
BTP	Bahan Tambahan Pangan
cm	centimeter
COX	Cyclooxygenase
g	gram
H	Hidrogen
H ₂ O ₂	Hidrogen Peroksida
HCl	Asam Klorida
HE	Hematoksin Eosin
iNOS	Nitric Oxide Synthase
kg	kilogram
l	Liter
MDA	Malondialdehid
Mg	milligram
ml	milliliter
mm	mikrometer
N	Nitrogen
NaCl	Natrium Klorida
nm	nanometer
O	Oksigen
OO	Peroksil
O ₂ ⁻	<i>superoxide</i>
PBS	<i>Phospat Buffered Saline</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	Superoksidasi Dismutase
TBA	<i>Thiobarbituric Acid</i>
TCA	<i>Trichloroacetic Acid</i>

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pada industri makanan dan minuman, secara umum produsen mengolah bahan makanan sedemikian rupa, sehingga makanan dan minuman dapat digemari oleh konsumen, yaitu dengan menambahkan bahan kimia sebagai Bahan Tambahan Makanan (BTM). Bahan Tambahan Makanan (BTM) atau sering pula disebut Bahan Tambahan Pangan (BTP) merupakan bahan yang ditambahkan kedalam makanan untuk mempengaruhi sifat ataupun bentuk makanan (Yulianti, 2007). Penambahan bahan tambahan pada makanan memiliki dosis tertentu karena bahan tambahan makanan dapat menyebabkan bahaya kesehatan (Kaunang dkk., 2012).

Bahan Tambahan Pangan (BTP) dapat memperpanjang umur simpan, dan boraks termasuk bahan beracun apabila digunakan dalam makanan. Boraks adalah senyawa berbentuk kristal putih tidak berbau dan stabil pada suhu ruangan. Boraks atau asam boraks biasanya digunakan untuk bahan pembuat deterjen dan antiseptik. Mengonsumsi makanan yang mengandung boraks tidak berakibat buruk secara langsung, tetapi boraks akan menumpuk sedikit demi sedikit karena diserap dalam tubuh konsumen secara kumulatif. Larangan penggunaan boraks juga diperkuat dengan adanya Permenkes RI No 235/Menkes/VI/1984 tentang Bahan tambahan makanan, Bahwa Natrium Tetraborate yang lebih dikenal dengan nama

Boraks digolongkan dalam bahan tambahan yang dilarang digunakan dalam makanan (Tubagus, 2013).

Boraks adalah salah satu bahan yang bersifat toksik bagi sistem reproduksi jantan karena dapat menghambat spermatogenesis yang mengakibatkan terjadinya infertilitas. Boraks merupakan suatu senyawa yang berbentuk kristal, warna putih, tidak berbau, larut dalam air dan stabil pada suhu dan tekanan normal. Boraks biasanya digunakan untuk pengawet dan antijamur kayu, sebagai antiseptik, dan pembasmi kecoa. Namun di negara berkembang seperti di Indonesia boraks sering disalahgunakan oleh industri pangan sebagai bahan tambahan makanan untuk menambah keawetan makanan (mayasari, 2012).

Boraks merupakan zat xenobiotik, karena senyawa kimia yang dimiliki kedua zat tersebut merupakan senyawa yang asing bagi tubuh. Zat xenobiotik yang dimetabolisme didalam hati melalui dua tahap, yaitu fase pertama, adalah oksidasi yang dikatalis oleh sekelompok enzim yang dinamakan monooksigenase atau sitokrom P450 dan fase kedua, adalah senyawa hasil dari produksi tahap pertama yang diubah menjadi berbagai metabolit polar oleh enzim spesifik. Zat xenobiotik yang dimetabolisme oleh sitokrom P450 akan menghasilkan radikal bebas. Radikal bebas yang terbentuk di dalam hati akan didistribusikan ke seluruh tubuh, salah satunya adalah organ testis. Jumlah radikal bebas yang berlebih mengakibatkan peningkatan proses peroksidasi lipid, sehingga produksi malondialdehid

(MDA) juga meningkat. Peningkatan peroksidasi lipid dapat memicu peningkatan pada kerusakan sel (Shkolniket *al.*, 2011).

Efek boraks terhadap histopatologi dan histometri pada spermatogenesis tikus yang dipapar boron 12 mg/L selama 42 hari didapatkan perubahan histologi testis hanya 27% sehingga hanya terlihat kerusakan secara mikroskopis yaitu atrofi dari tubulus seminiferus yang ditandai dengan diameter dan tinggi tubulus seminiferus menurun. Hal ini disebabkan oleh efek awal boraks bagi organ testis yaitu terjadinya penghambatan spermatogenesis sehingga sel-sel spermatogonium mengalami penurunan dalam maturitas, jika paparan boraks dilanjutkan dalam jangka waktu lama (sub kronis sampai kronis) maka akan menyebabkan sel-sel spermatogonium benar-benar tidak terbentuk sebagai epitel utama tubulus seminiferus yang akan menyebabkan atrofi testis menyeluruh sehingga menurunkan diameter dan berat testis (Mayasari, 2012).

Rempah dapat ditambahkan pada makanan untuk digunakan sebagai bahan yang dapat mencegah terbentuknya radikal bebas dan oksidasi lemak. Kombinasi beberapa jenis rempah atau antioksidan lain seperti lain seperti tokoferol dan asam askorbat dapat menghasilkan efek yang sinergis. Rempah dapat menghambat ketengikan dan memperpanjang umur simpan dengan menurunkan kecepatan oksidasi lemak atau aktivitas enzim. Proses oksidasi dihambat karena rempah dapat membloking radikal bebas sehingga tidak terjadi penguraian senyawa lebih lanjut. Komponen

dalam rempah yang berperan sebagai antioksidan adalah kelompok senyawa fenolik dan terpen yang spesifik pada beberapa jenis rempah. Jenis rempah yang memiliki fungsi antioksidan adalah Sereh (*Cymbopogon citrates*)(Putri, 2006).

Uji toksisitas merupakan suatu uji yang digunakan untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi. Hasil uji toksisitas tidak dapat digunakan secara mutlak untuk membuktikan keamanan suatu bahan atau sediaan, namun dapat memberikan petunjuk terdapat toksisitas relatif dan membantu identifikasi efek toksik apabila terjadi paparan (BPOM RI, 2014). Pada penelitian terdahulu, belum ada yang menjelaskan tentang toksisitas boraks terhadap kadar MDA dan gambaran histopatologi diameter tubulus seminiferus. Maka, pada penelitian ini akan dilakukan uji toksisitas boraks terhadap kadar MDA dan gambaran histopatologi diameter tubulus seminiferus.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka dapat dirumuskan beberapa permasalahan berikut:

1. Apakah terapi ekstrak serai (*Cymbopogon citratus*) dapat mempengaruhi kadar MDA pada testis tikus (*Rattus norvegicus*) yang terpapar boraks?
2. Apakah terapi ekstrak serai (*Cymbopogon citratus*) dapat mempengaruhi diameter tubulus seminiferus pada testis tikus (*Rattus norvegicus*) yang terpapar boraks?

1.3. Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penelitian ini dibatasi pada:

1. Hewan model yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan, strain *Wistar*, dari Laboratorium berumur 8-12 minggu, dan berat badan 180-250 gram. Penggunaan hewan coba dalam penelitian ini sudah dalam tahap pengajuan sertifikasi Laik Etik Penelitian dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya No:879-KEP-UB.
2. Boraks yang digunakan didapatkan dari panadia *Laboratory* dalam bentuk serbuk.
3. Ekstrak serai (*Cymbopogon citratus*) yang diekstraksi dengan metode maserasi.
4. Dosis pemberian boraks pada kelompok K+ yaitu sebanyak 260 mg/kg BB.
5. Dosis pemberian boraks dan ekstrak serai (*Cymbopogon citratus*) pada kelompok P1 yaitu 15 mg/kg BB. Perlakuan pada kelompok P2, yaitu diberikan boraks dan ekstrak serai (*Cymbopogon citratus*) dengan dosis 30 mg/kg BB. Perlakuan pada kelompok P3, yaitu diberikan boraks dan ekstrak serai (*Cymbopogon citratus*) dengan dosis 60 mg/kg BB.
6. Rute pemberian boraks dilakukan *per-oral* selama 14 hari, dan pemberian ekstrak serai (*Cymbopogon citratus*) dilakukan *per-oral* selama 14 hari.

7. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar MDA yang diukur menggunakan uji TBA (*Thiobarbituric Acid*) dan diameter tubulus seminiferus testis dengan menggunakan pewarnaan HE dan alat.

1.4. Tujuan

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh terapi ekstrak serai (*Cymbopogon citratus*) terhadap kadar MDA pada testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang terpapar boraks.
2. Mengetahui pengaruh terapi ekstrak serai (*Cymbopogon citratus*) terhadap diameter tubulus seminiferus pada testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang terpapar boraks.

1.5. Manfaat

Penelitian ini bermanfaat untuk mengetahui pengaruh boraks dan ekstrak serai (*Cymbopogon citratus*) terhadap testis dengan melihat kadar MDA dan diameter tubulus seminiferus pada testis tikus (*Rattus norvegicus*). Serta memberikan informasi bahaya boraks yang dikonsumsi dalam jangka waktu panjang pada reproduksi jantan secara terus menerus dan memberikan informasi manfaat ekstrak serai (*Cymbopogon citratus*) sebagai alternatif pengobatan herbal akibat radikal bebas dari boraks. Sehingga, hasil penelitian ini diharapkan dapat dipakai sebagai rujukan dalam upaya meningkatkan kesehatan manusia dan hewan.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tikus (*Rattus norvegicus*)

Hewan coba atau hewan laboratorium merupakan hewan yang khusus dikembangbiakkan untuk keperluan penelitian biologik. Hewan laboratorium dipergunakan sebagai model dalam penelitian yang berkaitan dengan pengaruh obat atau bahan kimia pada manusia. Tikus (*Rattus norvegicus*) merupakan salah satu hewan percobaan yang banyak digunakan di laboratorium karena dapat berkembang biak dalam jumlah besar dan cepat. Kelebihan penggunaan tikus (*Rattus norvegicus*) sebagai hewan coba antara lain tidak mudah muntah karena struktur anatomi yang tidak biasa pada esophagus yang bermuara kedalam empedu dan tidak mempunyai kantung empedu (Kusumawati, 2004).

Klasifikasi tikus (*Rattus norvegicus*) menurut Krinke (2000), adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub Filum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>



Gambar 2.1. Tikus (*Rattus novergicus*) (Akbar, 2010)

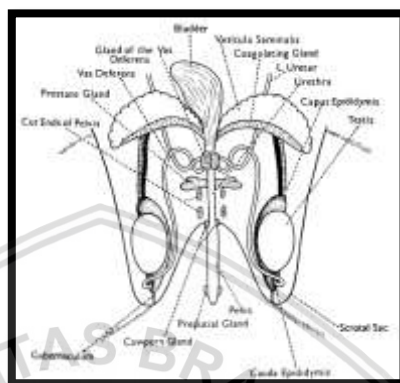
Tikus (*Rattus norvegicus*) merupakan spesies ideal untuk dijadikan sebagai hewan coba dalam uji toksikologi karena berat badan tikus dapat mencapai 500 gram. Dengan ukuran tubuh yang cukup besar, berarti organ tubuh tikus (*Rattus norvegicus*) juga relatif besar, sehingga materi dapat diberikan dengan mudah melalui berbagai rute. Reaksi yang ditunjukkan tikus (*Rattus norvegicus*) secara umum serupa dengan yang terjadi pada mencit, anjing, dan kera yang juga sering digunakan untuk uji toksikologi (Kusumawati, 2004).

Terdapat dua golongan uji toksikologi, yaitu uji toksikologi umum yang mencakup uji toksikologi akut, subakut, dan kronis serta uji toksikologi khusus yang bertujuan untuk mengetahui efek khusus akibat pemberian bahan kimia tertentu. Validitas hasil uji toksikologi suatu bahan dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain faktor bahan toksik, hewan coba, teknik, dan prosedur. Oleh karena itu dibutuhkan pemahaman terhadap berbagai faktor tersebut untuk meminimalkan resiko (Kusumawati, 2004).

2.2. Testis

Testis merupakan kelenjar utama dalam sistem reproduksi jantan yang bertanggung jawab terhadap produksi gamet jantan atau spermatozoa (spermatogenesis) dan sintesis hormon jantan atau androgen (steroidogenesis). Testis berjumlah sepasang, terletak di inguinal, tersimpan dalam kantung skrotum. Pada mammal, testis turun dan keluar dari rongga abdomen (peritoneal) menuju posisi ekstrakorporeal dan

akhirnya masuk ke dalam skrotum (inguinoskrotal). Proses ini dikenal sebagai *descensus testiculorum* yang dikendalikan oleh androgen (Fitria, 2015)



Gambar 2.2. Anatomi Testis (Fitria, 2015)

Testis berada di dalam *scrotum* yang berupa kantong terdiri atas kulit, *tunica dartos* dan sebagian *funiculus spermaticus*. Testis terletak menggantung di daerah prepubis dan digantung oleh *funiculus spermaticus* yang menggantung unsur-unsur yang terbawa oleh testis dalam perpindahannya dari *cavum abdominalis* melalui *canalis inguinalis* ke dalam *scrotum*. Pada setiap hewan jantan terdapat sepasang testis yang berbentuk seperti telur atau peluru, testis terbungkus oleh *tunica vaginalis propria* yang akan membungkus *ductus epididymis* dan *ductus deferens*. Pada bagian profundal tunica ini terdapat *tunica albuginea* yaitu suatu jaringan ikat padat berwarna putih yang terdiri atas serabut fibrosa dan serabut-serabut otot licin. Fungsi testis ada dua, yaitu penghasil spermatozoa dan hormon-hormon jantan atau androgen. Proses pembentukan spermatozoa disebut spermatogenesis. Spermatogenesis

merupakan proses perkembangan sel-sel spermatogenik yang terdiri dari tiga tahap, yaitu tahap spermatositogenesis atau proliferasi, tahap meiosis dan spermiogenesis. Spermatogenesis dipengaruhi oleh faktor-faktor endogen dan eksogen. Faktor endogen meliputi hormonal, psikologis, dan genetik. Faktor eksogen dapat berupa bahan kimia dan obat-obatan, suhu, radiasi sinar-X, getaran ultrasonik, vitamin, gizi, trauma dan peradangan (Destri, 2013).

Spermatogenesis adalah proses pembentukan spermatozoa yang terjadi di dalam tubulus seminiferus testis. Spermatogenesis dibagi menjadi 3 fase yaitu spermatositogenesis, meiosis dan spermiogenesis sebagai berikut:

a. Spermatositogenesis

Di dalam tubulus seminiferus terdapat sel-sel spermatogonium (jamak: spermatogonia) yang selama hidupnya aktif membelah secara mitosis. Spermatogonia dibagi dalam dua populasi, yaitu spermatogonia tipe A dan tipe B. Spermatogonia tipe A ada yang tergolong sel gelap (*dark cell*) yang tidak aktif membelah dan bersifat stem sel (sel-sel persediaan dalam waktu panjang). Sel pucat (*pale cell*) merupakan jenis spermatogonium A yang aktif membelah dan berasal dari sel gelap. Spermatogonium tipe B berasal dari tipe A yang membelah dan meninggalkan kemampuannya untuk membelah secara mitosis, untuk kemudian menyelesaikan proses spermatogenesis.

b. Meiosis

Pada fase meiosis ini terjadi pembelahan sekunder dari spermatosit primer menjadi spermatosit sekunder dan diikuti dengan terjadinya reduksi jumlah kromosom. Setelah menyelesaikan duplikasi DNA sel B disebut spermatosit praleptoten (spermatosit primer) yang siap untuk melakukan pembelahan meiosis. Selama pembelahan meiosis I, setiap spermatosit primer membelah menjadi 2 sel yang disebut spermatosit sekunder. Masing-masing spermatosit sekunder, selanjutnya akan melakukan pembelahan meiosis II yang akan menghasilkan 4 spermatid.

c. Spermiogenesis

Pada fase spermiogenesis ini akan terjadi perubahan morfologi dari spermatid menjadi spermatozoa. Spermiogenesis dibagi dalam empat fase yaitu fase golgi, fase cap (fase tutup), fase akrosom dan fase pematangan (maturasi) (Akbar, 2010).

2.3. Boraks

Boraks merupakan senyawa kimia turunan boron yang berbentuk serbuk kristal putih, tidak berbau, larut dalam air, tidak larut dalam alkohol, memiliki ph sekitar 9.5, memiliki berat molekul 381.37, titik lebur dari bentuk Kristal 743°C, densitas 1.73 g/cm³, dan merupakan senyawa hidrat dari garam natrium tetraborat dekahidrat ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$). Di Indonesia

boraks dikenal dengan nama air bleng, garam bleng, bubuk gendar, atau pijer. Selain bertujuan untuk mengawetkan makanan, penggunaan boraks juga bertujuan agar tekstur makanan menjadi lebih kompak (kenyal) dan penampakkannya menjadi lebih legit, tahan lama, dan terasa enak di mulut (Alsuhendra, 2013).

Boraks di dalam pencernaan manusia akan diubah menjadi asam borat. Asam borat diabsorpsi oleh lambung dengan cara difusi. Asam borat selanjutnya akan diserap ke dalam darah dan diedarkan ke seluruh tubuh (Alsuhendra, 2013). Beberapa studi menjelaskan bahwa asam borat diakumulasi di dalam hati, ginjal, dan testis (Mayasari, 2012).

Boraks yang dikonsumsi secara oral akan berinteraksi dengan HCl di lambung dan berubah menjadi asam boric. Asam boric yang terbentuk akibat reaksi dengan HCl akan terdisosiasi menjadi boron. Boron akan diabsorpsi dengan baik oleh vili vili intestinum pada traktus gastrointestinal. Selanjutnya boron akan terdistribusi melalui arteri mesenterica, vena porta hepatica dan akan didistribusikan ke seluruh kompartemen darah dan jaringan lainnya (liver, ginjal, usus besar, otak, hipotalamus, testis, epididimis, seminal vesicle, adrenal dan prostat) (Ramadhan, 2015).

Boraks adalah salah satu bahan yang bersifat toksik bagi sistem reproduksi pria karena dapat menghambat spermatogenesis yang mengakibatkan terjadinya infertilitas. Boraks merupakan suatu senyawa yang berbentuk kristal, warna putih, tidak berbau, larut dalam air dan stabil pada suhu dan tekanan normal. Boraks biasanya digunakan untuk pengawet dan

antijamur kayu, sebagai antiseptik, dan pembasmi kecoa. Namun di negara berkembang seperti di Indonesia boraks sering disalahgunakan oleh industri pangan sebagai bahan tambahan makanan untuk menambah rasa dan keawetan makanan (Mayasari, 2012).

2.4. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah suatu atom, gugus atom, atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital paling luar, antara lain atom hidrogen, logam-logam transisi, dan molekul oksigen. Secara umum, radikal bebas dapat terbentuk melalui satu diantara tiga cara sebagai berikut: (a.) melalui absorpsi radiasi (ionisasi, ultraviolet (UV), sinar tampak, panas); (b.) melalui reaksi redoks, dengan mekanisme reaksi fisika homolitik; dan (c.) melalui pemindahan elektron (Utami, 2010).

Berbagai proses metabolisme normal dalam tubuh juga dapat menghasilkan radikal bebas dalam jumlah kecil. Didalam sel hidup, radikal bebas terbentuk pada membran plasma dan organel-organel (mitokondria, peroksisom, retikulum endoplasmik, dan sitosol) melalui reaksi-reaksi enzimatik fisiologik yang berlangsung dalam proses metabolisme. Proses fagositosis oleh sel-sel fagositik termasuk netrofil, monosit, makrofag, dan eosinofil, juga menghasilkan radikal bebas, yaitu superoksida (O_2^-) (Halliwell and Gutteridge, 1999).

Radikal bebas bersifat sangat reaktif, karena mempunyai elektron yang tidak berpasangan. Kereaktifan tersebut dapat menimbulkan perubahan

kimiaawi dan merusak berbagai komponen sel hidup. Radikal bebas menyebabkan reaksi peroksidasi pada lipid, yang akan mencetuskan proses otokatalitik, yang akan menjalar sampai jauh dari tempat asal reaksi semula. Radikal bebas juga dapat menyerang gugus-gugus lain seperti protein, gugus tiol enzim, karbohidrat, dan nukleotida (Utami, 2010).

2.5. Antioksidan

Antioksidan adalah substansi yang dapat menetralkan dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas melalui penghambatan oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif sehingga radikal bebas menjadi relatif stabil. Tubuh memiliki sistem pertahanan terhadap radikal bebas, yaitu antioksidan endogen intrasel yang terdiri atas enzim-enzim yang disintesis oleh tubuh seperti superoksidase dismutase (SOD), katalase dan glutathione peroksidase. Pada keadaan terbentuknya radikal bebas dalam jumlah berlebihan, menyebabkan penurunan aktivasi sumber antioksidan endogen. Sehingga ketika terjadi peningkatan radikal bebas dalam tubuh, dibutuhkan antioksidan eksogen (yang berasal dari bahan pangan yang dikonsumsi) (Astuti, 2008).

Sistem pertahanan tubuh yang dapat digunakan untuk melawan radikal bebas sangat dipengaruhi oleh tersedianya zat-zat gizi dalam tubuh yang berasal dari makanan. Ada dua kelompok sumber antioksidan, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami atau

yang terkandung dalam bahan alami). Antioksidan alami berasal dari senyawa fenolik seperti golongan flavonoid (Astuti dkk, 2008).

2.6. Serai



Gambar 2.3. Serai (*Cymbopogon citratus*) (Chooi, 2008)

Taksonomi dari Serai (*Cymbopogon citratus*) menurut Ludang (2017), adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Sub kelas	: Commelinidae
Ordo	: Poales
Famili	: Poaceae
Genus	: <i>Cymbopogon</i>
Spesies	: <i>Cymbopogon citratus</i>

Serei (*Cymbopogon citratus*) merupakan salah satu tanaman yang biasa digunakan sebagai rempah oleh masyarakat Indonesia. Dalam pengobatan tradisional, sereh memiliki indikasi yang luas sebagai analgesik, antiseptik, antiemetik, antitusif, antirematik, antikonvulsan, serta pengobatan penyakit gastrointestinal dan saraf. Sereh juga digunakan sebagai antibakteri, antiinflamasi, dan antioksidan (Hairi, 2016).

Sereh mengandung zat bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, phenolic acid, dan terpenoid. Pada sereh zat bioaktif yang paling banyak terkandung adalah phenolic acid, flavonoid dan tanin yang berperan sebagai antioksidan. Kandungan flavonoid, phenolic acid dan tanin dalam sereh juga bekerja sebagai antioksidan dapat menghambat pengeluaran radikal bebas seperti *cyclooxygenase* (COX), *lipooxygenase*, dan *inducible Nitric Oxide Synthase* (iNOS) dan merubah jalur intraseluler pada sel-sel imun (Hairi, 2016).

Flavonoid memiliki efek biologis yang berhubungan dengan kemampuannya untuk memodulasi jalur sinyal sel. Flavonoid dapat berinteraksi dengan protein sinyal sel bahkan jika aktivitas antioksidan mereka berkurang. Transduksi sinyal yang efektif memerlukan protein yang dikenal sebagai kinase yang mengkatalisis fosforilasi protein target pada situs tertentu. Flavonoid dapat mengubah faktor pertumbuhan sinyal oleh fosforilasi reseptor menghambat atau menghalangi reseptor pengikat yang diberikan oleh faktor pertumbuhan. Flavonoid juga dapat memperpendek fase inflamasi dengan mengeliminasi *reactive oxygen species* (ROS),

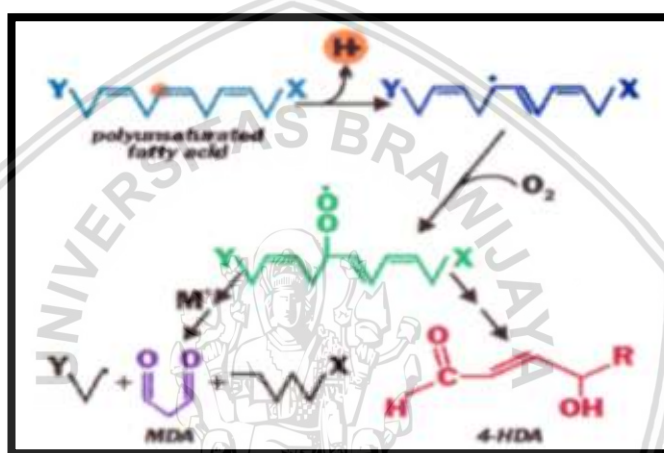
detoksifikasi hidrogen peroksida (H_2O_2) sehingga menurunkan level lipid peroksida, meningkatkan kadar enzim antioksidan sehingga menghambat efek berantai radikal bebas, serta memiliki efek antibakteri. Selain sebagai antiinflamasi dan antioksidan, kandungan tanin dan phenolic acid juga berperan sebagai antibakteri yang dapat mencegah terjadinya infeksi pada luka sehingga kesembuhan luka dapat dipercepat. Tanin dapat mengerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel bakteri itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel bakteri tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Hairi, 2016).

2.7. Malondialdehid (MDA)

Malondialdehid (MDA) merupakan suatu produk akhir peroksidasi lipid, yang sering digunakan sebagai biomarker biologis peroksidasi lipid dan menggambarkan derajat stres oksidatif (Hendromartono, 2000). Malondialdehid (MDA) adalah senyawa dialdehida atau berkarbon tiga yang reaktif, merupakan produk final peroksidasi lipid di dalam membran sel. Malondialdehid (MDA) dalam material hayati terdapat dalam bentuk bebas atau membentuk ikatan kompleks dengan unsur lain di dalam jaringan (Suryohudoyo, 2000).

Proses peroksidasi lipid menghasilkan beberapa produk akhir, antara lain senyawa MDA. Jumlah radikal bebas yang berlebih mengakibatkan peningkatan proses peroksidasi lipid, sehingga produksi

MDA juga meningkat. Mekanisme pembentukan MDA melalui peroksidasi lipid diawali dengan penghilangan atom hidrogen (H) dari molekul lipid tidak jenuh rantai panjang oleh gugus radikal hidroksil (OH), sehingga lipid bersifat radikal. Radikal lipid ini bereaksi dengan atom oksigen (O_2) membentuk radikal peroksil (OO), kemudian menghasilkan MDA (dengan ikatan tidak jenuh lebih dari tiga) (Yustika, 2013).

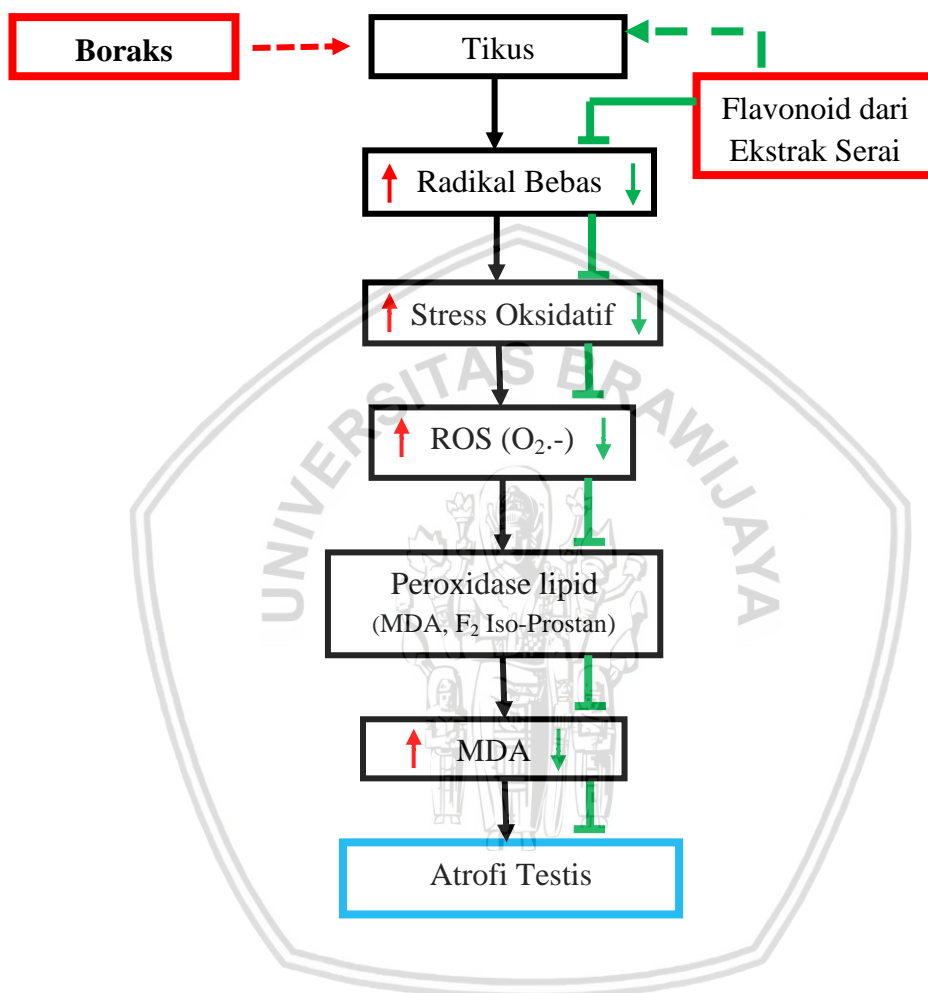


Gambar 2.4. Mekanisme Pembentukan Malondialdehid (MDA)

(Yustika, 2013)

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :

- - - > : Paparan
- - - > : Terapi
- ↑ : Peningkatan karena induksi Boraks
- ↓ : Penurunan karena terapi
- T : Menghambat
- : Variabel Bebas
- : Variabel Terikat

Hewan coba dipapar dengan induksi boraks menggunakan sonde. Radikal yang jumlahnya meningkat memiliki hasil samping berupa peningkatan produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*). Radikal bebas dapat masuk ke dalam pembuluh darah dan merusak endotel. Radikal bebas dalam darah akan berikatan dengan asam lemak tak jenuh berantai panjang (*Polyunsaturated fatty acid* atau PUFA) yang memiliki ikatan rangkap sehingga memicu stress oksidatif serta meningkatkan reaksi peroksidasi lipid pada membran sel. Sifat lipid yang tidak memiliki membran pelindung sebagai komponen membran sel, sensitif terhadap radikal bebas menyebabkan mudahnya terjadi peroksidasi lipid. Kerusakan jaringan akibat serangan ROS dikenal dengan stress oxidative, sedangkan faktor yang dapat melindungi jaringan terhadap ROS disebut antioksidan. Berbagai Jaringan yang dapat mengalami kerusakan akibat ROS diantaranya adalah *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA), lipid, dan protein. Interaksi ROS dengan basa dari DNA dapat merubah struktur kimia DNA, apabila tidak direparasi akan mengalami mutasi yang dapat diurunkan, terutama bila terjadi pada DNA sel germinal baik di dalam testis.

Dalam tubuh tikus jantan yang terpapar boraks akan terbentuk *reactive oxygen species* (ROS). Ketidakseimbangan radikal bebas ini mengakibatkan terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif menyebabkan gangguan pada proses oksidasi fosforilasi sehingga terjadi peningkatan produksi ROS di organ atau sel-sel yang menyusun organ seperti spermatozoa. Pemberian boraks dapat menyebabkan inhibisi spermiasi, penipisan epitel germinal, disorganisasi epitel germinal, penyempitan ukuran diameter tubulus seminiferus.

Radikal yang jumlahnya meningkat memiliki hasil samping berupa peningkatan produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*). Radikal bebas dapat masuk ke dalam pembuluh darah dan merusak endotel. Radikal bebas dalam darah akan berikatan dengan asam lemak tak jenuh berantai panjang (*Polyunsaturated fatty acid* atau PUFA) yang memiliki ikatan rangkap sehingga memicu stress oksidatif serta meningkatkan reaksi peroksidasi lipid pada membran sel. Sifat lipid yang tidak memiliki membran pelindung sebagai komponen membran sel, sensitif terhadap radikal bebas menyebabkan mudahnya terjadi peroksidasi lipid. Salah satu indikator yang digunakan untuk menentukan kondisi stres oksidatif adalah kadar MDA (malondialdehyde). Peningkatan produksi radikal bebas akan berakhir pada kerusakan oksidatif di dalam sel dan jaringan yang akan menyebabkan sel atau jaringan tersebut kehilangan fungsinya.

Terapi ekstrak serai mengandung flavonoid yaitu peroksida yang merupakan senyawa pengoksidasi dan kerjanya tergantung pada kemampuan pelepasan oksigen aktif dan reaksi ini diharapkan mampu bekerja sebagai antioksidan (Ummah, 2010). Akan berperan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas sehingga ROS tidak reaktif terhadap PUFA dan tidak terjadi peroksidasi maka akan menurunkan kadar MDA. Ketika ROS sudah distabilkan maka permeabilitas membran akan kembali normal dan asam lemak dapat dimetabolisme dengan baik sehingga menghambat kerusakan testis.

3.2 Hipotesis Penelitian

- 1 Pemberian ekstrak serai (*Cymbopogon citratus*) dapat menurunkan kadar MDA (*malondialdehida*) pada tikus putih (*Rattus novergicus*) hasil induksi senyawa boraks.
- 2 Pemberian ekstrak serai (*Cymbopogon citratus*) meningkatkan diameter tubulus seminiferus organ testis pada tikus putih (*Rattus novergicus*) hasil induksi senyawa boraks.



BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada di Laboratorium Universitas Islam Malang untuk tahapan pemeliharaan hewan coba, pemberian perlakuan, dan pengambilan sampel uji. Pengukuran kadar MDA dilakukan di Laboratorium Fisiologi FK UB. Pembuatan dan pembacaan preparat histopatologi testis dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi FK UB.

4.2. Alat dan Bahan

4.2.1 Alat

Peralatan yang dipergunakan dalam penelitian ini, antara lain bak pemeliharaan hewan coba, seperangkat alat bedah, gelas objek, labu takar (10 mL, 100 mL, 500 mL, 1000 mL), pipet tetes, gelas ukur 100 mL, gelas kimia (50 mL, 250 mL, 500 mL, 1000 mL), pengaduk kaca, tabung reaksi, corong gelas, gelas arloji), mortar, mikro pipet (10 μ L, 20 μ L, 200 μ L, 1000 μ L), rak tabung reaksi, penangas air, spatula, botol semprot, eppendorf, tabung polipropilen, lemari pendingin, pH meter digital, penjepit, pisau mitokrom, neraca analitik, seperangkat alat sentrifugasi (Denleytype BR 401), inkubator (Mettler), vortex (Guo-Huq), spektrofotometri UV-VIS, mikroskop cahaya (Nikon), autoclave, Spektrofotometer IR, timbangan, plastik klip, toples, tisu, sarung tangan.

4.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*), makanan dan minuman hewan coba, ekstrak serai (*Cymbopogon citratus*), ethanol absolut 96%, akuades steril, alkohol 96%, PBS, NaCl 0,9%, formalin absolut 37%, minyak emersi, pewarna HE, Alkohol bertingkat (30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 96%).

4.3. Tahapan Penelitian

4.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental, menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan. Perlakuan A yaitu merupakan tikus kontrol negatif yaitu tikus sehat tanpa perlakuan, perlakuan B tikus kontrol positif tikus yang diinduksi boraks dengan dosis 260 mg/kgBB, perlakuan C yaitu tikus yang diinduksi boraks dan mendapatkan terapi diinduksi boraks dan mendapatkan terapi ekstrak serai (*Cymbopogon citratus*) ekstrak serai (*Cymbopogon citratus*) dengan dosis 15 mg/kg BB dan perlakuan D tikus yang dengan dosis 30 mg/kg BB. perlakuan E tikus yang diinduksi boraks dan mendapatkan terapi ekstrak serai (*Cymbopogon citratus*) dengan dosis 60 mg/kg BB Perlakuan terapi dengan Ekstrak serai (*Cymbopogon citratus*) dilakukan dengan pemberian secara per oral setiap hari selama 15 hari. Masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 5 ekor tikus sebagai ulangan.

Tabel 4.1. Rancangan Penelitian

Kelompok	Keterangan
K(-)	Tikus putih diberikan pakan dan minum <i>ad-libitum</i> pada hari ke-1 hingga hari ke-35, kemudian tikus putih tidak diberikan boraks dan ekstrak serai
K(+)	Tikus putih diberikan pakan dan minum <i>ad-libitum</i> pada hari ke-1 hingga hari ke-35, kemudian tikus putih diberikan boraks dengan dosis 260 mg/kgBB selama 14 hari
P1	Tikus putih diberikan pakan dan minum <i>ad-libitum</i> pada hari ke-1 hingga hari ke-35, kemudian tikus putih diberikan boraks dan ekstrak serai dengan dosis 15 mg/kgBB selama 14 hari
P2	Tikus putih diberikan pakan dan minum <i>ad-libitum</i> pada hari ke-1 hingga hari ke-35, kemudian tikus putih diberikan boraks dan ekstrak serai dengan dosis 30 mg/kgBB selama 14 hari
P3	Tikus putih diberikan pakan dan minum <i>ad-libitum</i> pada hari ke-1 hingga hari ke-35, kemudian tikus putih diberikan boraks dan ekstrak serai dengan dosis 60 mg/kgBB selama 14 hari

4.3.2. Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini menggunakan hewan coba berupa tikus (*Rattus norvergicus*) jantan strain Wistar berumur 8-12 minggu. Berat badan tikus antara 180-250 gram. Hewan coba diadaptasi selama tujuh hari untuk menyesuaikan dengan kondisi di laboratorium. Ekstrak Serai (*Cymbopogon citratus*) yang didapat melalui ekstraksi dari laboratorium batu. Estimasi besar sampel dihitung berdasarkan rumus (Kusriningrum, 2008):

$$t(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 20/5$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

t = jumlah kelompok perlakuan

n = jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan di atas, maka untuk 5 macam kelompok perlakuan diperlukan jumlah tikus putih (*Rattus norvergicus*) sebanyak 5 kali dalam setiap kelompok sehingga dibutuhkan total 20 ekor tikus (*Rattus norvergicus*) sebagai hewan coba.

4.3.3. Variabel Penelitian

Adapun variabel penelitian terdiri dari :

Variabel bebas: Dosis Terapi Ekstrak Serai (*Cymbopogon citratus*) pada tikus dengan dosis 15 mg/kg BB dan 30 mg/kg BB, 60 mg/kg BB.

Variabel tergantung: Kadar Malondialdehida (MDA) dan gambaran histopatologi organ testis. Variabel kontrol: Berat badan tikus, umur tikus, jenis kelamin tikus, suhu ruangan, kelembapan, kandang dan pakan tikus.

4.4. Prosedur Kerja

4.4.1 Persiapan Hewan Coba

Tikus yang digunakan untuk penelitian diadaptasi terhadap lingkungan selama tujuh hari dengan pemberian makanan berupa ransum basal pada semua tikus. Tikus dibagi dalam 5 kelompok perlakuan. Setiap kelompok perlakuan terdiri dari 4 ekor tikus. Tikus ditempatkan pada wadah bak plastik dengan ukuran diameter 80 cm dan tinggi 40 cm jumlahnya sesuai dengan jumlah tikus yang digunakan. Tempat tikus berlokasi pada tempat yang bebas dari suara ribut dan terjaga dari asap industri serta polutan lainnya. Lantai kandang mudah dibersihkan, disanitasi dan ventilasi yang cukup.

4.4.2 Pembuatan Ekstrak serai (*Cymbopogon citratus*)

Kandungan serai yang tertinggi adalah tanin dan flavanoid, maka metode ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Dalam metode ini menggunakan simplisia dari batang serai yang berumur tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda, kemudian serai dicuci menggunakan air mengalir, dipotong kecil-kecil dan kemudian dikeringkan pada suhu 40° C selama 48 jam menggunakan oven setelah kering serai diblender hingga menjadi serbuk. Setelah itu dilakukan pembuatan ekstraksi dengan cara merendam serbuk simplisia di dalam wadah dengan menggunakan etanol 96% selama 24 jam sambil sesekali diaduk. Kemudian dilakukan penyaringan dan selanjutnya diuapkan dengan vaccum rotary evaporator dengan suhu pemanasan 40-50° C, sampai diperoleh ekstrak yang kental (Hairi, 2016).

4.4.3. Persiapan Tikus dengan Induksi Boraks

Pembuatan larutan boraks yang akan diinduksikan pada tikus dilakukan dengan mengambil boraks dengan dosis 260 mg/kgBB dimasukkan secara per oral menggunakan sonde pada tikus (*Rattus norvergicus*).

4.4.4. Pemberian Terapi Ekstrak Serai (*Cymbopogon citratus*)

Tikus perlakuan C, D dan E diberikan terapi Ekstrak serai (*Cymbopogon citrates*) secara peroral setiap hari selama 14 hari dengan dosis C 15 mg/kg BB, D 30 mg/kg BB, dan E 60 mg/kg BB. Setelah 15

hari tikus dimatikan untuk dilakukan pengamatan ekspresi *Malondialdehida* serta diameter tubulus seminiferus organ testis.

4.4.5. Preparasi Organ Testis

Pengambilan jaringan organ testis hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) dilakukan pada hari ke-15 setelah diberikan terapi selama 14 hari dengan Ekstrak serai (*Cymbopogon citratus*). Sebelum pengambilan organ testis, langkah pertama yang dilakukan adalah mendislokasi hewan coba pada bagian leher kemudian dilakukan pembedahan. Pembedahan dilakukan pada bagian perut, tikus diletakkan pada posisi ventrodorsal pada papan pembedahan. Kemudian diambil organ reproduksinya, testis dipisahkan dari vas deferens dan epididimis. Organ testis dibilas dengan NaCl-fisiologis 0,9% dingin. Kemudian organ testis dimasukkan dalam larutan *Phospate Buffer Saline*-azida (PBS-azida) pH 7,4 dan dilakukan pewarnaan HE (Nugroho, 2010).

4.4.6. Pembuatan preparat histologi menurut jusuf (2009)

Pembuatan preparat histologi menurut jusuf (2009). Langkah-langkah dalam proses pembuatan preparat histologi ini yaitu:

a. Fiksasi

Fiksasi dilakukan untuk mengawetkan dan mengeraskan jaringan. Melakukan dislokasi pada bagian leher tikus, selanjutnya dibedah dan diambil organ testis. Potongan tersebut dimasukkan dalam larutan paraformaldehida (PFA) 4%.

b. Dehidrasi dan Infiltrasi

Dehidrasi dilakukan untuk mengeluarkan air dari dalam jaringan yang telah difiksasi sehingga jaringan dapat diisi dengan parafin yang digunakan untuk membuat blok preparat dengan menggunakan larutan alkohol secara bertingkat, dengan konsentrasi 80%, 90%, 95% dan absolut selama 20 menit dalam kondisi teragitasi suhu 4°C. Proses infiltrasi menggunakan perbandingan larutan alkohol absolut dan propylene oxide secara bertingkat hingga hanya menggunakan propylene murni. Infiltrasi dilakukan dalam kondisi teragitasi dan pada suhu ruang selama 30 menit untuk setiap tahapannya.

c. Penjernihan (*clearing*)

Penjernihan (*clearing*) adalah tahap mengeluarkan alkohol dari jaringan dan menggantinya dengan suatu larutan yang dapat berikatan dengan paraffin. Proses penjernihan (*clearing*) dilakukan dengan cara jaringan dipindahkan dari alkohol absolut 3 ke larutan penjernihan yaitu xylol 1 selama 20 menit dan xylol II selama 30 menit.

d. *Embedding*

Embedding adalah proses untuk mengeluarkan cairan clearing agent dari jaringan dan diganti dengan parafin. Proses *embedding* dilakukan dengan mencelupkan jaringan testis dalam paraffin cair yang telah dituang ke dalam wadah dan dibiarkan memadat.

e. Pemotongan (*sectioning*) dan penempelan pada gelas objek

pembuatan preparat testis dengan memasukkan hasil embedding pada penjepit (block holder). Pemotongan diawali dengan mengatur ketebalan irisan dengan ukuran $\pm 4 \mu\text{m}$. Hasil irisan dipindahkan dengan kuas ke dalam air hangat 38-40°C untuk membuka lipatan dan meluruskan kerutan halus yang ada. Irisan yang terentang sempurna diambil dengan gelas objek. Potongan terpilih dikeringkan dan diletakkan di atas *hot plate* 38-40°C lalu siap diwarnai dengan pewarna *Hematoxylin Eosin* (HE).

4.4.7. Pewarnaan *Hematoxylin Eosin*

Pewarnaan *Hematoxylin Eosin* dilakukan dengan menggunakan zat pewarna hematoksilin. Zat pewarna hematoksilin berfungsi untuk memberi warna biru pada inti sel (basofilik). Eosin merupakan staining counter hematoksilin, digunakan untuk memulas sitoplasma sel dan jaringan penyambung dan memberikan warna merah muda.

Tahapan pewarnaan diawali dengan proses deparafinasi dengan menggunakan xylol lalu dilanjutkan dengan proses rehidrasi dengan menggunakan alkohol absolut I, II, III masing-masing 5 menit, alkohol 95%, 90%, 80%, dan 70% secara berurutan masing-masing 5 menit. Sediaan dicuci dengan air mengalir selama 15 menit dan dilanjutkan dengan aquades selama 5 menit. Setelah itu diwarnai dengan pewarna hematoksilin selama 10 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 30 menit dilanjutkan dengan air aquades selama 5 menit. Sediaan diwarnai dengan pewarna eosin selama 10 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 30 menit dilanjutkan dengan air aquades

selama 5 menit. Setelah sediaan diwarnai, dilakukan dehidrasi dengan alkohol 70%, 80%, 90%, dan 95% masing-masing selama beberapa detik dan dilanjutkan dengan alkohol 100% I, II dan III masing-masing 2 menit. Setelah itu dilakukan proses Clearing dengan xylol I, II, III selama 3 menit dan ditutup dengan gelas penutup (Dewi, 2011).

4.4.8. Pengamatan dan pengukuran tubulus seminiferus

Pengukuran yang lebih teliti, dipakai alat bantu pengukuran yang disebut dengan mikrometer. Mikrometer merupakan kaca berskala dimana dalam penggunaannya ada 2 jenis mikrometer yaitu mikrometer okuler dan mikrometer objektif. Mikrometer okuler dipasang pada lensa okuler mikroskop, sedangkan mikrometer objektif berbentuk slide yang ditempatkan pada meja preparat mikroskop. Pada prinsipnya skala okuler adalah skala yang terdiri dari 1-100 dimana jarak antara garis sama tetapi tidak diketahui nilainya. Sedangkan pada skala objektif adalah skala yang terdiri dari 1-100 dimana jarak antara garis memiliki nilai 0,01 mm atau 10 μ m. Kalibrasi dilakukan dengan menghimpitkan skala mikrometer objektif dan okuler pada perbesaran yang diinginkan. Skala ke nol (garis pertama) kedua mikrometer disimpulkan menjadi 1 garis kemudian dilihat pada skala ke berapa kedua jenis mikrometer tersebut bertemu/berhimpit kembali. Dari hasil tersebut dapat diketahui satu satuan panjang pada skala mikrometer okuler itu berdasarkan beberapa jumlah skala kecil mikrometer objektif yang berada di antara garis yang berhimpit (Ratnawati, 2010).

4.4.9. Pengukuran Kadar Malondialdehid (MDA)

4.4.9.1 Pembuatan Kurva Standar MDA

Pembuatan kurva standar MDA dilakukan dengan membuat larutan stok MDA dengan konsentrasi 0,25; 0,5; 1; 2; dan 3 $\mu\text{g/ml}$ masing-masing diambil 100 μL . Dimasukkan dalam *eppendorf* yang berbeda. Ditambahkan 550 μL akuades. Masing-masing tabung yang berisi 650 μL larutan ditambahkan 100 μL TCA 10%, 250 μL HCl 1N, dan 100 μL Na-Thio 1%. Selanjutnya larutan dihomogenkan dengan melakukan sentrifugasi 500 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil dan diinkubasi dalam penangas air dengan suhu 100°C selama 30 menit. Setelah itu, didinginkan pada suhu ruangan. Larutan standar MDA tersebut diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer *Shimadzu UV-visible spectrophotometer UV-1601[®]* pada panjang gelombang maksimum 532 nm. Hasil absorbansi kemudian dibuat kurva standar. Kurva standar MDA dihasilkan dari persamaan regresi antara absorbansi (y) dan konsentrasi MDA (x) (Lovric *et al.*, 2008).

4.4.9.2 Pengukuran Kadar MDA Menggunakan Uji *Thiobarbituric Acid* (TBA)

Organ testis dari masing-masing kelompok diambil sebanyak 0,5 gram dipotong kecil-kecil dan digerus dengan menggunakan mortal dingin. Kemudian ditambahkan 1 mL NaCl 0,9%. Homogenat yang terbentuk dipindahkan ke dalam *ependorf* dan disentrifugasi selama 20 menit pada kecepatan 8000 rpm, setelah itu diambil supernatannya

sebanyak 100 μL . Supernatan testis ditambah 550 μL akuades dan dihomogenkan dengan vortex. Lalu ditambahkan 100 μL TCA dan dihomogenkan dengan vortex. Ditambahkan 250 μL HCl 1N dan dihomogenkan dengan vortex. Ditambahkan 100 μL Na-Thio dan dihomogenkan dengan vortex. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm selama 15 menit. Supernatan yang terbentuk dipisahkan dan dipindahkan pada *ependorf* yang baru. Selanjutnya larutan diinkubasi dalam waterbath pada suhu 100 $^{\circ}\text{C}$ selama 30 menit kemudian dibiarkan pada suhu ruang. Sampel diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum 532 nm untuk uji TBA dan diplotkan pada kurva standar MDA yang telah dibuat untuk menghitung konsentrasi sampel (Lovric *et al.*, 2008).

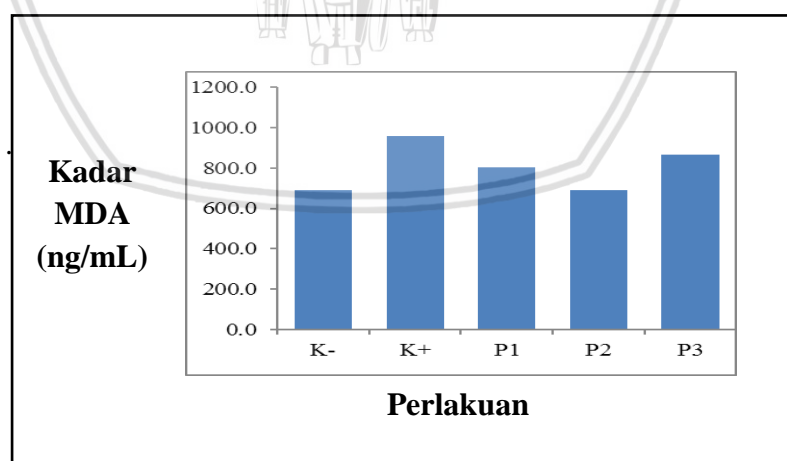
4.4.10 Analisa Data

Data yang diperoleh dari hasil perlakuan dianalisis dengan menggunakan Analisis Ragam ANOVA untuk analisis kadar MDA dan jika terdapat perbedaan nyata hasil antar perlakuan, maka dilakukan uji lanjutan BNJ = 0.05% untuk melihat dan menganalisa perbedaan antar kelompok perlakuan (Kusriningrum, 2008).

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Pengaruh Toksisitas Boraks terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Testis Tikus (*Rattus norvegicus*)

Penelitian ini mengukur kadar MDA jaringan testis tikus (*Rattus norvegicus*) strain Wistar model toksisitas boraks dengan induksi ekstrak serai. Malondialdehid (MDA) merupakan salah satu produk dari reaksi peroksidasi lipid akibat membran sel yang rusak oleh radikal bebas yang merupakan biomarker stress oksidatif (Asni, 2009). Pengukuran MDA dilakukan dengan teknik *Thiobarbitoric acid* (TBA), dengan mengukur nilai absorbansi pada panjang gelombang (λ) 532 nm. Nilai absorbansi TBA dilakukan *ekstrapolasi* untuk mendapatkan kadar MDA dari sampel. Hasil kadar MDA tersebut dilakukan analisa statistic menggunakan *Statistical Product of Service Solution* (SPSS) dengan uji *one way* ANOVA dan dilanjutkan dengan uji Tukey atau BNJ (**Gambar 5.1**).



Gambar 5.1. Grafik Rata-rata Kadar Malondialdehid (MDA) Testis Tikus (*Rattus norvegicus*)

Hasil analisa statistika terhadap kadar MDA Testis tikus (*Rattus norvegicus*) diperoleh rata-rata kadar MDA pada masing-masing kelompok perlakuan yaitu pada kelompok K(-) tanpa diberi perlakuan didapatkan hasil rata-rata kadar MDA $690,25 \pm 41,56$. Pada kelompok K(+) yang diberiboraks dengan dosis 260 mg/kgBB didapatkan hasil rata-rata MDA $959,00 \pm 45,05$. Pada kelompok P1 yang diberi ekstrak serai dengan dosis 15 mg/kgBB didapatkan hasil rata-rata MDA $804,63 \pm 42,35$. Pada kelompok P2 yang diberi ekstrak serai dengan dosis 30 mg/kgBB didapatkan hasil rata-rata kadar MDA $691,50 \pm 49,41$ dan pada kelompok P3 yang diberi ekstrak serai dengan dosis 60 mg/kgBB didapatkan hasil rata-rata kadar MDA $865,25 \pm 70,55$ (Tabel 5.1)

Tabel 5.1. Rata-rata Kadar Malondialdehid (MDA) Testis Tikus (*Rattus norvegicus*)

Perlakuan	Rata-rata Kadar MDA \pm SD (ng/mL)	Kadar Malondialdehid (MDA)	
		Peningkatan terhadap K(-)	Penurunan terhadap K(+)
K(-)	$690,25 \pm 41,56^a$	-	-
K(+)	$959,00 \pm 45,05^c$	28%	-
P1	$804,63 \pm 42,35^b$	-	16%
P2	$691,50 \pm 49,41^a$	-	27%
P3	$865,25 \pm 70,55^{b,c}$	-	10%

Keterangan : Perbedaan notasi a, b, c menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok perlakuan.

Kelompok K(-) merupakan kelompok kontrol tanpa induksi boraks ataupun ekstrak serai, memiliki rata-rata kadar MDA testis sebesar $690,25 \pm 41,56^a$ ng/mL, hal tersebut menunjukkan bahwa secara normal tubuh memproduksi MDA. Menurut Valko et al. (2007), MDA secara normal diproduksi oleh sel dikarenakan radikal bebas yang terbentuk ketika terjadi metabolisme dalam sel. Winarsi (2007) menambahkan bahwa, radikal bebas dalam jumlah rendah mampu dinetralisir oleh antioksidan endogen dalam tubuh tetapi apabila jumlah senyawa radikal bebas melebihi jumlah antioksidan endogen dalam tubuh, maka radikal bebas akan merusak komponen lipid sehingga mengakibatkan stres oksidatif.

Kadar MDA pada kelompok K(-) dibandingkan dengan kelompok K(+), menunjukkan peningkatan yang signifikan ($p < 0,05$), yaitu terjadi peningkatan sebesar 28%. Peningkatan tersebut dapat disebabkan karena, Boraks dapat membentuk radikal bebas eksogen. Radikal bebas yang dibentuk oleh boraks merupakan jenis radikal bebas hidroksil ($\bullet\text{OH}$) radikal hidroksil dapat menimbulkan reaksi rantai yang dikenal dengan nama peroksidasi lipid (Airlangga, 2015). Proses peroksidasi lipid terjadi apabila radikal bebas bertemu dengan enzim atau PUFA. Proses peroksidasi lipid ini menghasilkan beberapa produk akhir antara lain adalah senyawa MDA. Sehingga apabila peroksidasi lipid meningkat, maka produksi MDA juga meningkat (Yustika, 2013).

Penelitian ini menguji manfaat serai dalam perannya menurunkan aktivitas oksidan tubuh, yang mendapatkan induksi boraks. Tampak bahwa,

hasil pengukuran kadar MDA kelompok P1 menunjukkan penurunan yang signifikan ($p < 0,05$) jika dibandingkan dengan K(+), dengan tingkat penurunan 16%. Pada kelompok P2, dengan pemberian dosis ekstrak serai 2 kali lebih besar, tampak bahwa rata-rata kadar MDA menunjukkan penurunan yang lebih besar hampir 2 kali, dan berbeda signifikan jika dibandingkan dengan K(+), dengan tingkat penurunannya sebesar 28%. Dan tampak bahwa kadar MDA kelompok P2 tidak berbeda bermakna dengan kelompok K(-), sehingga dapat dinyatakan bahwa ekstrak serai dosis 30mg/Kg BB, memberikan efek penurunan rata-rata kadar MDA yang menyerupai kondisi normal. Serai mengandung flavanoid senyawa yang memiliki kemampuan menangkap radikal bebas. Flavanoid merupakan senyawa golongan fenol yang pada umumnya banyak terdapat pada tumbuhan berpembuluh. Flavanoid memiliki kemampuan untuk mengubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai anti radikal bebas. Sehingga serai dapat menjadi antioksidan alami yang dapat memperlambat laju reaksi oksidasi atau dapat mencegah dan menghambat proses oksidasi oleh adanya suatu radikal bebas reaktif dengan cara menyumbangkan satu atau lebih elektronnya pada senyawa radikal bebas (Nugraha, 2017).

Berbeda dengan kelompok P2, pada kelompok P3, kelompok dengan pemberian ekstrak serai dosis tertinggi 60mg/Kg BB, menunjukkan rata-rata kadar MDA yang lebih tinggi dibandingkan dengan K(-), secara signifikan mengalami kenaikan. Dan walaupun kenaikan ini masih relatif rendah dibandingkan dengan K(+), dimana rata-rata kadar MDA kelompok P3

mengalami penurunan sebesar 10% jika dibandingkan dengan kelompok K(+), dan tidak signifikan ($p > 0,05$). Pemberian ekstrak serai dosis tinggi pada penelitian ini cenderung meningkatkan rata-rata kadar MDA. Merujuk pada penelitian oleh Palozza, 1998; Bagnati et al., 1999: bahwa Beberapa flavonoid juga dapat mengalami auto-oksidasi dan menghasilkan ROS, seperti hidrogen peroksida. Auto-oksidasi adalah pembentukan radikal bebas dan peroksida yang disebabkan oleh spesies oksigen reaktif (Marks, 2000). Hal ini memberikan implikasi penggunaan serai berkaitan dengan dosis maksimal.

5.2 Pengaruh Ekstrak Serai (*Cymbopogon Citratus*) Terhadap Diameter Tubulus seminiferus Testis Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Dengan Pewarnaan Hematoksilin Eosin

Borat adalah senyawa boron-oksigen yang dihasilkan dari pengikatan boron dengan oksigen. Ketika diberikan kepada hewan, borat anorganik mengalami biotransformasi menjadi asam borat dan diserap dari permukaan mukosa. Lebih dari 90% borat yang diberikan kepada manusia atau hewan diekskresikan sebagai asam borat (World Health Organization 1998; Bolaños et al. 2004). Garam borat telah dilaporkan memiliki efek sitotoksik dan anti-inflamasi pada sel, tergantung pada garam borat, konsentrasinya, dan jenis sel yang digunakan. Efek reproduksi dari boron (asam borat dan borat) telah diperiksa secara menyeluruh dalam penelitian hewan percobaan (tikus, mencit dan anjing) menggunakan dosis oral. Efek pada fertilitas terlihat di seluruh spesies dalam hal lesi testis, lebih jelas pada tikus dan mencit karena studi

pada anjing dipertanyakan karena tingkat dosis yang tidak memadai dan jumlah hewan. Secara keseluruhan, efek pada testis telah diamati dalam studi subkronis dan kronis dalam tiga spesies: tikus, mencit dan anjing.

Dalam rangka menguji pengaruh pada system reproduksi, maka dilakukan penelitian mengukur diameter tubulus seminiferus testis tikus yang diinduksi natrium borak. Dengan menggunakan teknik pewarnaan Hematoxilen-eosin, sejumlah sepuluh tubulus berdekatan dilakukan pengukuran diameter menggunakan mikroskop perbesaran 100x yang sudah terpasang mikrometer okuler. Hasil pengukuran berupa skala (micrometer okuler) kemudian dilakukan ekstrapolasi (konversi) kesatuan millimeter (mm) berdasarkan perbandingan terhadap skala *micrometer objective*. Hasil pengukuran dilakukan analisis menggunakan menggunakan *Statistical Product of Service Solution* (SPSS) dengan uji *one way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Tukey* atau *BNJ*, sebagaimana tampak pada (**Tabel 5.2**).

Hasil analisa statistika terhadap ukuran tubulus seminiferus testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) diperoleh pada masing-masing kelompok perlakuan yaitu pada kelompok K(-) tanpa diberi perlakuan didapatkan hasil rata-rata $127,2500 \pm 6,84957$, pada kelompok K(+) yang diberi boraks dengan dosis 260 mg/kgBB didapatkan hasil rata-rata $48,2500 \pm 8,26136$, pada kelompok P1 yang diberi ekstrak serai dengan dosis 15 mg/kgBB didapatkan hasil rata-rata $82,2500 \pm 7,41058$, pada kelompok P2 yang diberi ekstrak serai dengan dosis 30 mg/kgBB didapatkan hasil rata-rata $113,5000 \pm 9,81495$ dan pada

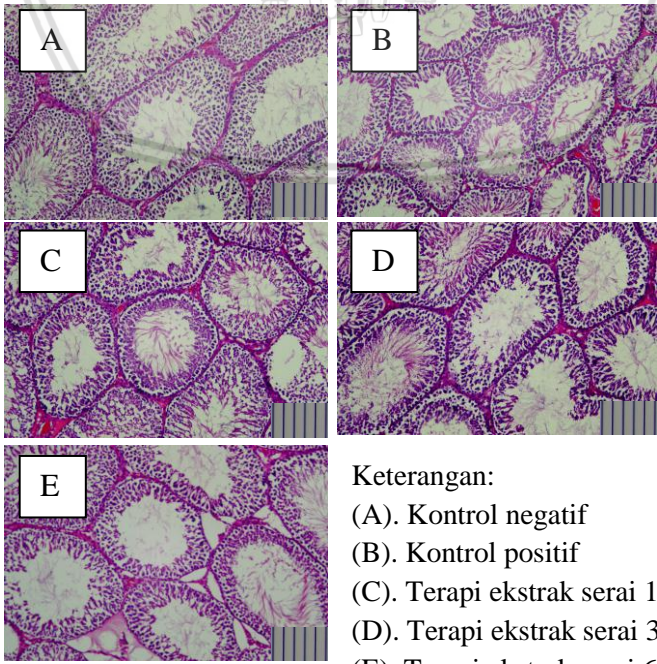
kelompok P3 yang diberi ekstrak serai dengan dosis 60 mg/kgBB didapatkan hasil rata-rata kadar $79,5000 \pm 6,19139$ (**Tabel 5.2**)

Tabel 5.2. Rata-rata Diameter Tubulus Seminiferus Testis Tikus (*Rattus norvegicus*)

Perlakuan	Rata-rata Diameter Tubulus Seminiferus \pm SD (mm)	Diameter Tubulus Seminiferus	
		Penurunan terhadap K(-)	Peningkatan terhadap K(+)
K(-)	$127,2500 \pm 6,84957^c$	-	-
K(+)	$48,2500 \pm 8,26136^a$	62%	-
P1	$82,2500 \pm 7,41058^b$	-	41%
P2	$113,5000 \pm 9,81495^c$	-	57%
P3	$79,5000 \pm 6,19139^b$	-	39%

Keterangan : Perbedaan notasi a, b, c menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok perlakuan.

Gambar 5.2 Histologi tubulus seminiferus tikus dengan pewarnaan HE perbesaran 100x.



Keterangan:
 (A). Kontrol negatif
 (B). Kontrol positif
 (C). Terapi ekstrak serai 15 mg/kg BB
 (D). Terapi ekstrak serai 30 mg/kg BB
 (E). Terapi ekstrak serai 60 mg/kg BB

Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan signifikan rata-rata diameter tubulus seminiferus kelompok K(+) jika dibandingkan dengan K(-) diketahui terjadi penurunan diameter sebesar 62%. Hal ini menunjukkan bahwa boraks dapat memperkecil ukuran tubulus seminiferus testis tikus. Dalam sistem in vitro dan in vivo, asam borat menunjukkan afinitas untuk kelompok cis-hydroxyl, dan afinitas tersebut dapat menjelaskan mekanisme dimana asam borat menghasilkan beberapa efek biologisnya (World Health Organization 1998; Bolaños et al. 2004). Karena struktur kompleks dan karakteristik ikatan, borat telah menunjukkan aksi penghambatan pada enzim seperti dehidrogenase aldehida, nitrat oksida sintase (NOS), peptidase, xanthine oxidase, dan protease. NOS bertanggung jawab dalam produksi NO, pada umumnya, konsentrasi NO rendah ($<1\mu\text{M}$) mempromosikan kelangsungan hidup sel, proliferasi dan homeostasis. Hambatan produksi NO ini akan menyebabkan gangguan, salah satunya adalah fungsi vascularisasi, yang menjamin dalam proses aliran oksigen dan nutrisi pada jaringan testis. Demikian juga, melihat hasil penelitian sebelumnya bahwa pemberian per-oral boraks memberikan dampak pada peningkatan kadar MDA secara nyata. Hal ini juga bias menjadi factor resiko adanya proses oksidatif stress, yang tentunya akan memacu proses kematian sel-sel pada tubulus seminiferus. Kematian sel akan berimplikasi pada hilangnya masa dari tubulus seminiferus, sehingga diameter tubulus berkurang secara signifikan.

Pada kelompok P1, tampak bahwa rata-rata diameter tubulus seminiferus menunjukkan peningkatan yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok

K(+), demikian juga pada kelompok P2, terdapat peningkatan yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok yang sama K(+), berturut-turut meningkat 41% dan 57%. Dan antara kelompok P1 terhadap P2 menunjukkan rata-rata diameter tubulus seminiferus meningkat dengan signifikan. Peningkatan ini, dimungkinkan bahwa terdapat perbaikan struktural berkaitan dengan viabilitas sel penyusun dari tubulus seminiferus. Seperti halnya penelitian yang dilakukan oleh Gorbet, et al. 2010, menunjukkan bahwa *borate buffer* menurunkan viabilitas kultur sel HCECs (*human corneal epithelial cells*) dan dengan melihat pengaruh pemberian ekstrak serai, tampak bahwa dosis 15 mg/kgBB (P1) dan dosis 30 mg/KgBB, bisa meningkatkan diameter tubulus seminiferus.

Ekstrak serai telah digunakan selama beberapa dekade untuk mengobati infeksi saluran pernapasan, sinusitis, infeksi kandung kemih, kolesterol tinggi, masalah pencernaan, varises dan juga untuk regenerasi jaringan ikat. Ini memiliki anti spasmodik, anti-piretik, anti-jamur, anti-bakteri, anti-inflamasi, anti-septik, anti-oksidan (Rajesvari dan Lakshmi, 2013).

Penelitian ini menunjukkan bahwa peran serai bisa memberikan efek pada proses vasodilatasi dari pembuluh darah testis, yang akan berimplikasi pada oksigenasi dan suplai nutrisi pada testis. Berpijak pada hasil kadar MDA, pada kelompok P1 dan P2, bahwa penurunan rata-rata kadar MDA pada kelompok ini, menunjukkan peranan oksidan serai. Penurunan oksidan (MDA) oleh antioksidan (ekstrak serai) bisa berdampak pada penurunan status stress oksidatif jaringan testis keseluruhan.

Pada kelompok P3, menunjukkan hasil yang berbeda dari pola kelompok P2. Diameter tubulus seminiferus cenderung turun seiring dengan naiknya besaran dosis ekstrak serai. Kelompok P3 (dosis 60 mg/kg BB) menunjukkan penurunan secara signifikan diameter tubulus seminiferus dibandingkan dengan kelompok P2, namun demikian masih lebih besar signifikan dibandingkan kelompok K(+), dengan kenaikan sebesar 39%. Dan jauh menurun dibandingkan dengan kelompok K(-). Hal ini dimungkinkan bahwa ekstrak serai, berdampak terhadap peningkatan status oksidan, sehingga pemberian dosis yang besar (60mg/kgBB) berdampak stress oksidatif dari bahan, sebagaimana pada penelitian yang dilakukan pada ekstrak serai di India Barat menunjukkan aktivitas pro-oksidan yang kuat pada semua konsentrasi yang diuji (Baratta et al 1998). Pro-oksidan adalah proses fisiologis timbulnya radikal bebas dalam tubuh (Sirajuddin, 2006). Aktivitas pro-oksidatif serai (*Cymbopogon citratus*) menunjukkan bahwa tanaman ini menyebabkan pembentukan radikal hidroksil (Lertsiri dan Dumri, 2005). Ekstrak metanol dari serbuk serai menggunakan sistem model lecithin-liposom menghasilkan aktivitas pro-oksidatif, seperti yang dikonfirmasi oleh peningkatan asam reaktif thiobarbituric acid (Dumri dan Lertsiri, 2005).



BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah disampaikan dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Pemberian terapi ekstrak serai (*Cymbopogon Citratus*) dengan dosis terbaik 30 mg/kg BB pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang terpapar boraks dapat menurunkan kadar MDA sebesar 27%.
2. Pemberian terapi ekstrak serai (*Cymbopogon Citratus*) dengan dosis terbaik 30 mg/kg BB pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) terpapar boraks dapat meningkatkan diameter tubulus seminiferus sebesar 57%.

6.2. Saran

Diperlukan penelitian yang lebih lanjut tentang dosis yang lebih baik untuk dapat menurunkan kadar MDA dan meningkatkan diameter tubulus seminiferus.

DAFTAR PUSTAKA

- Airlangga, H., Sawitri, E., Arfarita, N. 2015. *Observasi Efek Ekstrak Etanol Daun Bambu Jawa (Gigantochloa atter (Hassk.) Kurz) Dengan Parameter Fisik dan Fisiologi Hewan Uji Tikus (Rattus sp.) yang Diinduksi Boraks*. Jurnal *Observasi Efekekstraketanol*. Fakultas Kedokteran. Universitas Islam Malang. Malang
- Akbar, B. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Penerbit Adabia Press. Jakarta
- Alsuhendra dan Ridawati. 2013. *Bahan Toksik dalam Makanan*. PT Remaja Rosdakarya Offset. Bandung.
- Astuti, S., D. Muchtadi, M. Astawan, B. Purwantara & T. Wresdiyati. 2008. *Kadar Peroksida Lipid dan Aktivitas Superoksida Dismutase (SOD) Testis Tikus yang Diberi Tepung Kedelai Kaya Isoflavon, Seng (Zn) dan Vitamin E*. Majalah Kedokteran Bandung 40(2) (In Press)
- Asni, E. 2009. *Pengaruh Hipoksia Berkelanjutan Terhadap Kadar Malondialdehida, Glutation Tereduksi dan Aktivitas Katalase Ginjal Tikus*. *Maj Kedokt Indon* 59 (12): 595-600.
- Aulia, N.D., Suwendar, Fitrianingsih, P.S. 2015. *Uji Aktivitas Diuretik Ekstrak Etanol Akar Sereh Wangi (Cymbopogon Nardus L. Rendle) pada Tikus Wistar Jantan*. Jurnal Prosiding Penelitian SPeSIA. Fakultas MIPA. Unisba. Bandung
- Bagnati, M., Perugini, C., Cau, C., Bordone, R., Albano, E. and Bellomo, G. 1999. *When and why a water-soluble antioxidants becomes pro-oxidant during copper-induced low-density lipoprotein oxidation*. *Biochem. J.* 340:143-152.
- Baratta MT, Dorman HJD, Deans SG, Figueiredo AC, Barroso JG and Ruberto G, 1998. *Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils*. *Flavour and Fragrance Journal*, 13(4), 235-240.
- Bolaños, L., Lukaszewski, K., Bonilla, I., Blevins. D. 2004. *Why boron? Plant Physiol. Biochem.* 42, 907-912.
- [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2014. *Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik secara In Vivo*. Direktorat Obat Asli Indonesia. Jakarta.
- Chooi, H., O. 2008. *Rempah-Ratus Khasiat Makanan dan Ubatan*. Penerbit Utusan Publications. Malaysia



- Destri, W. 2013. *Studi Histopatologi Respon Organ Testis Mencit (Mus Musculus) Terhadap Potensi Radioprotektif Tanaman Rosela Dalam Radiasi Ionisasi Radiodiagnostik* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Dumri, K., Lertsiri S. 2005. *Pro-oxidative activity in some Thai spices, ActaHorticulturae*, (680):25-29
- Fitria, L., Mulyati, M. Cut, Tiraya dan S. Andreas, Budi. 2015. *Profil Reproduksi Jantan Tikus (Rattus norvegicus Berkenhout, 1769) Galur Wistar Stadia Muda, Pradewasa, dan Dewasa*. Jurnal Biologi Papua. Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada (UGM), Yogyakarta
- Gorbet, M.B., Tanti, C.N., Jones, L., and Sheardown, H. 2010. *Corneal Epithelial Cell Biocompatibility To Silicone Hydrogel and Conventional Hydrogel Contact Lens Packaging Solutions*. Journal Molecular Vision. University Of Waterloo. Canada
- Hairi, M., Dewi, N., H. Khatimah. 2016. *Pengaruh Ekstrak Sereh (Cymbopogon Citratus) Terhadap Panjang Luka Mukosa Labial Mencit Secara Klinis*. Jurnal Kedokteran Gigi. Program Studi Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat. Banjarmasin
- Halliwell B., and J. M. C. Gutteridge. 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University. London.
- Hendromartono, S. 2000. *Peran Radikal Bebas Terhadap Komplikasi Vaskuler*. Udayana. Bali.
- Kaunang, J., Fatimawati., dan F. Fatimah. 2012. *Identifikasi dan Penetapan Kadar Pengawet Benzoat pada Saus Tomat Produksi Lokal yang Beredar di Pasaran Kota Manado* [Skripsi]. FMIPA UNSRAT. Manado.
- Krinke, G. J. 2000. *The Hand Book of Laboratory Animal. The Laboratory Rat*. Midas Printing Ltd, Scotland 349-353
- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Lertsiri, S., Dumri, K. 2005. *Protein cleavage due to pro-oxidative activity in some spices. ActaHorticulturae*, (680):87-91.
- Lovric, J., M. Mesic., M. Macan., M. Koprivanae., M. Kelava and V. Bradamante. 2008. *Level of Malondialdehida (MDA) Level in Ren after Simvastatin Treatment. Periodicum Biologum*. Vol. 110, No.I, p. 63-67. ISSN 0031-
- Ludang, Y. 2017. *Keragaman Hayati Ruang Terbuka Hijau Berbasis Pengtahuan Ulayat di Kota Palangka Raya*. Penerbit AnImage. Banten

- Mark, B.D., Mark, D.A., & Smith, M.C. 2000. *Biokimia Kedokteran Dasar*. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta
- Mayasari, D., N. Mardiroharjo. 2012. *Pengaruh Pemberian Boraks Peroral Sub Akut Terhadap Terjadinya Atrofi Testis Tikus Putih Jantan (Rattus Novergicus Strain wistar)*. Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang. Malang
- Nugraha, A.D.M. 2017. *Perbedaan Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase dan Serum Glutamat Piruvat Transaminase Pada Ayam Petelur Pasca Pemberian Serbuk Serai Dalam Pakan [Skripsi]*. Fakultas Peternakan dan Pertanian. Universitas Diponegoro. Semarang
- Nugroho, V.A., 2010. *Efek Pemberian Ekstrak Kedelai (Glycine max (L) Merrill) Selama Tiga Bulan Terhadap Jumlah Spermatozoa Tikus (Rattus Norvergicus) Strain Wistar Jantan [Skripsi]*. African journal of biotechnology. 6 (10): 1236-1238
- Palozza, P. 1998. *Pro-oxidant actions of carotenoids in biologic systems*. Nut. Rev. 56:257-265.
- Pramesti, A.C., Arimbi, Srianto, P. 2016. *Pengaruh Pemberian Kombinasi Vitamin E dan Vitamin C sebagai Tindakan Preventif terhadap Jumlah Sel Leydig Mencit (Mus musculus) yang dipapar Boraks*. Jurnal Veterina Medika. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya
- Putri, R., D, W., dan K. Febrianto. 2006. *Rempah-Rempah Fungsi dan Pemanfaatannya*. Penerbit Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya. Malang
- Rajesvari, R., dan Lakshmi. 2013. *Lemon Grass Oil For Improvement Of Oral Health*. Bachelor of Dental Surgery Student and Pharmacology, Saveetha Dental College and Hospitals. India
- Ramadhan, Y.A., Nisa, K. 2006. *Efektivitas Buah Tomat sebagai Penghambat Kerusakan Hepar Akibat Boraks*. Jurnal Agromed Unila. Fakultas Kedokteran. Universitas Lampung. Lampung
- Ratnawati. 2010. *Petunjuk Praktikum Mikroteknik*. FMIPA UNY. Yogyakarta
- Redha, A. 2010. *Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya Dalam Sistem Biologis*. Jurnal Belian. Jurusan Teknologi Pertanian. Politeknik Negeri Pontianak. Pontianak
- Sirajuddin, S. 2006. *Media Gizi Pangan*. Jurnal Gizi. FKM. Universitas Hasanudin. Makassar

- Skholnik, K., A. Tadmor., S. Ben-Dor., N. Nevo., D. Galiani., and N. Dekela. 2011. *Reactive Oxygen Species are Indispensable in Ovulation*. Proc Natl Acad Sci USA 108.
- Suryohudoyo, P. 2000. *Kapita Selektta Ilmu Kedokteran Molekuler*. Perpustakaan Nasional RI. Penerbit CV Sagung Seto. Jakarta.
- Tubagus, I., Citraningtyas, G., dan Fatimawali. 2013. *Identifikasi dan Penetapan Kadar Boraks dalam Bakso Jajanan di Kota Manado*. Jurnal Ilmiah Farmasi. Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT. Manado
- Utami, D. F.R. 2010. *Peroksidasi Lipid pada Tikus Hiperkolesterolemia Selama Pemberian Ekstrak Kulit Batang Mahoni (Swietenia macrophylla) [Skripsi]*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor.
- Valko, M., C. J. Rhodes, J. Moncol, M. Izakovic, and M. Mazur. 2007. *Free Radical, Metal and Antioxidants in Normal Physiological Function and Human Diseases*. *Inter J Biochem Cell Biol*. 2007;39 44-84
- WHO. 1998. *Environmental Health Criteria 204. Boron*. Geneva, Switzerland: World Health Organization, International Programme on Chemical Safety.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikan Bebas*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Yuliarti, N. 2007. *Awas Bahaya Dibalik Lezatnya Makanan*. Edisi Pertama. Yogyakarta: CV.ANDI offset :92-93.
- Yustika, A. R., Aulanni'am, dan S. Prasetyawan. 2013. *Kadar Malondialdehid (MDA) dan Gambaran Histologi pada Ginjal Tikus Putih (Rattus norvegicus) Pasca Induksi Cylosporine-A*. Kimia Student Journal. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya. Malang